

PENGARUH EKSTRAK *Tagetes erecta* L TERHADAP PERTUMBUHAN JAMUR *Saprolegnia* sp SECARA IN VITRO

EFFECT OF EXTRACT *Tagetes erecta* L ON MUSHROOM GROWTH *Saprolegnia* sp IN VITRO

Sufal Diansyah¹, Farah Diana¹

¹Jurusan Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat
Korespondensi : farahdaiana@utu.ac.id

Abstract

Saprolegnia sp fungi are freshwater mushrooms that live in freshwater environments and require water to grow and reproduce. Mushroom *Saprolegnia* is a major type of water fungus that is associated with fungal infections of fish and eggs that are in freshwater. *Saprolegnia* sp fungus is also called a cold water fungus because it spreads in cold water. *Saprolegnia* fungus growth in fish / egg bodies or suitable substrate is affected by water temperature. *Saprolegnia* sp attack causes clinical symptoms that are filled with white threads such as cotton grown in fish eggs. To overcome this problem needed a solution for the prevention of fungal infections one of them is by using anti-fungal herbs such as chicken shoot leaves (*Tagetes erecta* L). therefore this research needs to be done to control fungal infections *Saprolegnia* sp on tawes fish eggs. This study used a complete randomized design (RAL), each treatment was repeated three times, the treatment was: P0 = ppm, P1 = 400 ppm, P2 = 600 ppm, and P3 = 800 ppm. The results showed that the most effective extraction was found in treatment P1 with an average value of 14%.

Keywords : *Tagetes erecta* L, *Saproegnia* sp.

I. Pendahuluan

Jamur *Saprolegnia* sp adalah jamur air tawar yang hidup di lingkungan air tawar dan memerlukan air untuk tumbuh dan bereproduksi. Jamur *Saprolegnia* merupakan jenis utama jamur air yang berhubungan dengan infeksi jamur terhadap ikan dan telur yang berada dalam air tawar (Noga, 1996). Jamur *Saprolegnia* sp disebut juga sebagai jamur air dingin karena menyebar di air dingin. Pertumbuhan jamur *Saprolegnia* pada tubuh ikan / telur atau substrat yang cocok dipengaruhi oleh suhu air. Sebagian besar jamur *Saprolegnia* mampu tumbuh secara optimum pada selang suhu antara 15 - 30 °C (Carlson 2007 dalam Rahmaningsih 2011). Serangan jamur *saprolegnia* sp menyebabkan gejala klinis yaitu dipenuhi benang-benang putih seperti kapas yang tumbuh pada telur ikan (Vandenberg, 2008).

Penanggulangan infeksi jamur pada saat penetasan telur umumnya menggunakan antibiotik dan senyawa sintetis lainnya. Penggunaan antibiotik saat ini sudah dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada jamur dan bakteri patogen yang terdapat di dalam media penetasan serta mengakibatkan pencemaran lingkungan. Solusi untuk mengatasi masalah tersebut, maka perlu

adanya bahan alternatif yang lebih aman dan dapat mengendalikan penyakit akibat jamur *Saprolegnia sp.* Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah penggunaan tanaman yang bersifat anti jamur. Penggunaan tanaman sebagai obat memiliki beberapa keuntungan yaitu bahan alami pengganti antibiotik, ramah terhadap lingkungan, tidak menyebabkan resistensi pada ikan, mudah diperoleh dan harganya ekonomis (Permatasari, *et.al.*, 2013). Bahan-bahan alami yang telah banyak digunakan sebagai anti jamur pada telur ikan antara lain daun kelor, daun pepaya (Septiani, *et.al.*, 2016), minyak astiri (Afrensi, 2007) dan lain sebagainya. Beruntung, Indonesia sebagai negara agraris yang memiliki iklim tropis memiliki kekayaan alam yang luar biasa, beragam jenis tanaman terdapat di negara ini sehingga masih banyak sekali jenis tanaman berkhasiat obat lainnya yang belum tergali potensinya secara maksimal. Salah satunya adalah tanaman yang sudah sangat akrab dengan kehidupan masyarakat Aceh, daun bunga tahi ayam (*Tagetes erecta L.*). Tanaman ini mudah didapat dan dikenal mengandung khasiat obat. *Tagetes erecta L* biasa digunakan untuk mengobati sakit perut pada manusia, dan penyakit lainnya. Namun, penggunaan tanaman *Tagetes erecta L* sebagai bahan pengendalian jamur *saprolegnia sp* pada telur ikan belum dilakukan. Menurut Chivde (2011) Daun bunga tahi ayam memiliki kandungan kimia sebagai anti jamur yaitu beberapa *Flavonoid* seperti *Kuersetagenin*, *Tagettin*, *Kaemferol* dan *Kaemferitin*.

II. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Mei 2017. Ekstraksi dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian (THP) Fakultas Pertanian Universitas Syah Kuala dan Uji Fitokimia dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Syah Kuala, uji In-Vivo dilaksanakan di BBI Krueng Batee Kecamatan Kuala Batee Kabupaten Aceh Barat Daya.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1 dan.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Gelas ukur 1000 ml	Sebagai wadah penetasan telur
2	Thermometer	Untuk mengukur suhu
3	Do Meter	Untuk mengukur DO
4	Aerator	Untuk mensuplai oksigen
5	Selang Aerasi	Untuk mengatur oksigen
6	Batu Aerasi	Untuk menyaring oksigen keluar

7	Tandon	Untuk penampungan Air
8	Scopnet	Untuk mengambil telur ikan

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Ekstrak daun <i>Tagetes erecta</i> L	Sebagai anti jamur pada telur ikan
2	Telur Ikan Tawes	Sebagai objek penelitian
3	Jamur Saprolegnia	Sebagai objek penelitian
4	NaCl	Untuk pengenceran larutan
5	methanol	Sebagai pelarut Ekstraksi bahan

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak daun *Tagetes erecta* L

Daun *Tagetes erecta* L yang digunakan dicuci bersih dan dikering anginkan selama tiga hari. Setelah kering Daun *Tagetes erecta* L dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk daun *Tagetes erecta* L ditimbang sebanyak 500 gram dan ditambahkan sedikit demi sedikit pelarut methanol p.a sebanyak 4 liter hingga seluruhnya terendam sambil diaduk, dengan lama perendaman 48 jam. Larutan hasil ekstraksi disaring dengan kertas Whatman No.1 dan hasilnya dimasukkan ke dalam botol tertutup untuk selanjutnya dievaporasi. Ekstrak daun yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 58-60°C hingga diperoleh larutan yang kental. Ekstrak daun *Tagetes erecta* L disimpan dalam *freezer* sampai digunakan.

2. Uji Fitokimia *Tagetes erecta* L

Uji fitokimia *Tagetes erecta* L merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terdapat didalamnya. Tahapan pengujian saponin, flavonoid, alkaloid dan fenolik dilakukan berdasarkan metode Harborne (1998) .

Simplisia sebanyak 10 gram dimasukan kedalam labu erlemeyer yang berisi pelarut methanol 100 ml kemudian diaduk dan direndam selama 24 jam.

3. Uji In Vivo

1. Persiapan Wadah

Wadah pemeliharaan digunakan adalah gelas ukur volume 1000 ml sebanyak 15 unit, Semua wadah penelitian sebelum digunakan terlebih dahulu di suci hamakan dengan cara dicuci dan dijemur.

2. Pembuatan Larutan Uji

Bahan ekstrak *Tagetes erecta* L diukur dengan kebutuhan setiap perlakuan yaitu : P0 (0 ppm), P1 (400 ppm), P2 (600 ppm), dan P3 (800 ppm). Setelah

larutan ekstrak *Tagetes erecta L* didapat melalui dosis, kemudian digunakan terhadap perendaman telur untuk mengetahui daya tetas telur dari serangan jamur *Saprolegnia sp.*

Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis ragam dengan menggunakan *Analysis Of Variance (ANOVA)* untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap pertumbuhan jamur *Sprolegnia sp.* Data-data tersebut disajikan dalam bentuk grafik dan tabel. Jika dari analisis ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka untuk menentukan perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

III. Hasil dan Pembahasan

1. Uji fitokimia *Tagetes erecta L*

Pada penelitian ini dilakukan beberapa pengujian fitokimia secara kualitatif meliputi pengujian flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan (Sangi,*et.al.*,2008). Berdasarkan pengujian fitokimia ekstrak *Tagetes erecta L* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. hasil uji fitokimia sebagai berikut :

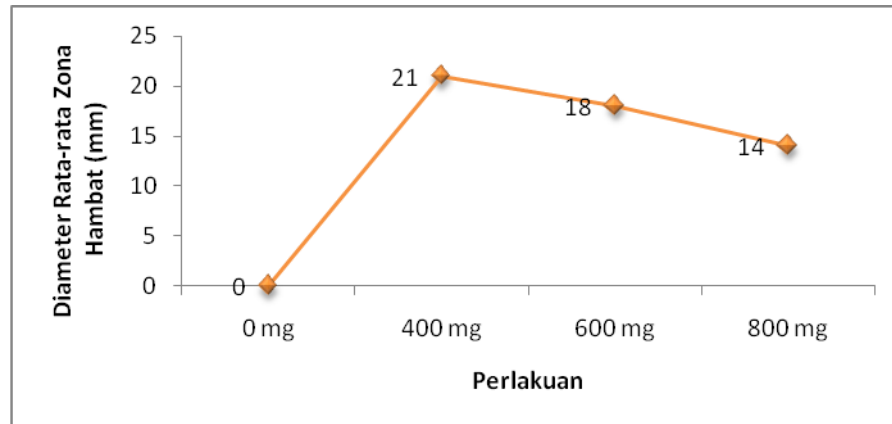
Kandungan Kimia	Reagen	Sampel Segar <i>Tagetes erecta L</i>	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mayer	+	Endapan Coklat
	Wagner	+	Endapan Merah
	Dragendorff	+	Endapan Putih
Steroid	Uji Liebermann	+	Warna Hijau
Terpenoid	Uji Liebermann	-	Warna Merah
Saponin	Pengocokan	-	Berbusa
Flavonoid	0,5 g Mg dan HCl	-	Warna Merah
Tanin	MgCl ₃	+	Coklat Kehitaman
Fenolik	MgCl ₃	+	Coklat Kehitaman

Keterangan : (+) menunjukkan hasil positif dan (-) menunjukkan hasil negatif.

Hasil uji fotokimia dari tabel di atas menunjukkan bahwa ekstrak daun tahi ayam (*Tagetes erecta L*) mengandung beberapa senyawa bioaktif diantaranya yaitu : alkaloid, steroid, tanin dan fenolik, dimana setiap senyawa tersebut memiliki fungsi dan manfaat yang berbeda.

2. Uji *In Vitro*

Hasil uji sensitivitas dengan metode *in vitro* diketahui bahwa ekstrak *Tagetes erecta L* mampu menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia sp* yang di tumbuhkan pada media Na. Kemampuan ini dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening yang tinggi disekitar kertas cakram yang menunjukkan bahwa *Tagetes erecta L* memiliki sifat anti jamur.

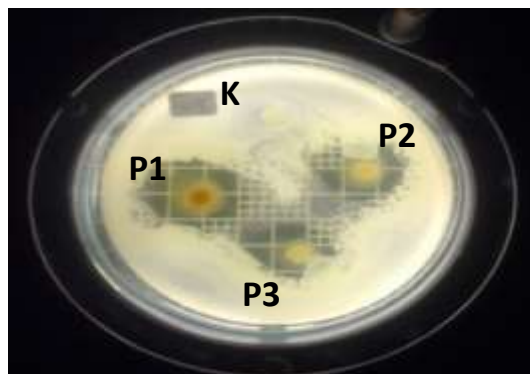


Gambar 1. Diameter zona hambat ekstrak *Tagetes erecta L* terhadap *Saprolegnia sp*

Diameter zona hambat yang paling besar pada uji ini ditemukan pada perlakuan P1 (21 mm), perlakuan P2 (18 mm) dan perlakuan P3 (14 mm). Berdasarkan ketiga dosis tersebut kemampuan ekstrak daun tahi ayam tergolong kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Arora dan Bhardwaj (1997), bahwa aktivitas antimikroba dikategorikan memiliki tingkat sensitivitas tinggi apabila diameter zona hambat mencapai >12 mm. Kategori tingkat sensitivitas sedang apabila ekstrak mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 9-12 mm. Kategori tingkat sensitivitas rendah, apabila diameter berkisar antara 6-9 mm dan resisten apabila < 6 mm. Menurut Lay (1994), terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram membuktikan adanya daya anti jamur. Zona bening yang kecil menunjukkan adanya aktifitas antimikroba yang rendah, sedangkan zona hambat yang besar menunjukkan adanya aktifitas antimikroba yang tinggi. Besarnya aktifitas antimikroba tersebut diduga karena adanya senyawa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun tahi ayam. Bahan aktif pada daun tahi ayam yang berfungsi sebagai antimikroba adalah flavonoid.

Prajitno (2007) menjelaskan bahwa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim mikroba. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif kedalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian mikroba. Pada kerusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai

menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan mikroba akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.



Gambar 2. Zona Hambat Ekstrak daun tahi ayam pada Jamur *Saprolegnia sp.*

Berdasarkan Hasil perhitungan ANOVA menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun tahi ayam sebagai antimikroba *Saprolegnia sp* pada ikan tawes berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat. Nilai zona hambat maksimum terdapat pada perlakuan P1 yaitu 14,34%, diikuti P2 dengan rata-rata 14%, selanjutnya P3 dengan rata-rata yaitu 13,67% dan P0 (kontrol) sebesar 0%.

3. Aktivitas antimikroba Ekstraksi daun tahi ayam (*Tagetes erecta L*)

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak daun tahi ayam terhadap jamur *Saprolegnia sp* menggunakan metode difusi agar. Pengujian ini bertujuan untuk melihat kemampuan ekstrak tagetes dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia sp* yang dilihat dari terbentuknya zona hambat berwarna bening disekitar kertas cakram. Hasil rerata dari pengujian antimikroba ekstrak tagetes terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Klasifikasi kemampuan penghambatan senyawa antimikroba berdasarkan luas zonahambat.

Perlakuan	Luas Zona Hambat (mm ²)	Kemampuan Penghambatan
K	0 mm	Lemah
P1	13 mm + 8 mm	Sangat Kuat
P2	12mm + 6 mm	Kuat
P3	9 mm + 5 mm	Kuat

Kemampuan penghambatan antibakteri ekstrak daun tahi ayam (*Tagetes erecta L*) terhadap jamur *Saprolegnia sp* dapat diketahui dari luas zonahambat yang terbentuk. Berdasarkan penelitian, kemampuan penghambatan ekstrak dengan konsentrasi P0 (kontrol) 0gr/L lemah, P1 40 ppm sangat kuat, P2 50 ppm dan P3 60 ppm kuat. Pada P1 merupakan konsentrasi yang terbaik dalam

menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia sp* dengan diameter rata-rata zona hambat 21 mm.

4. Ekstraksi Daun Tahi Ayam (*Tagetes erecta L*)

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut nya. Akan bertambah baik jika permukaan bahan bersentuhan langsung dengan pelarut semakin luas, maka kecepatan zat aktif semakin besar sehingga zat aktif makin mudah melewati membran sel. Hasil ekstrak dari semua pelarut nya disebut filtrate (Ahmad dan Benjakul. 2010).



Gambar 3. Filtrat daun bunga tahi ayam (*Tagetes erecta L*)

Daun bunga tahi ayam (*Tagetes erecta L*) yang digunakan adalah daun yang masih dalam keadaan basah dan segar, lalu daun tahi ayam dikeringanginkan sampai kadar air menurun. Hasil maserasi berupa filtrat berwarna hijau kekuningan sebanyak 2000 ml. Kemudian di uapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 25,5 ml berwarna hitam kehijauan. Ekstrak kental yang diperoleh dari *Tagetes erecta L* sebanyak 2000 ml dengan rendemen 1,275%. seperti yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rendemen Ekstrak *Tagetes erecta L*

Bahan	<i>Tagetes erecta L</i>
Berat Bahan (ml)	2000
Hasil Ekstraksi (ml)	25,5
Rendemen (%)	1,275

Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi, keefektifan proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, ukuran partikel sampel, lamanya waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi yang digunakan.

Pembahasan

Pada pengujian secara *in vitro* perlakuan P1 ini juga menunjukkan diameter zona hambat paling besar, yaitu 21 mm (dosis 400 ppm). Berdasarkan hasil tersebut, menjelaskan bahwa dosis ekstrak tagetes berpotensi untuk mengobati ikan tawes yang diinfeksi jamur *Saprolegnia sp.*

Haryani *et al.*, (2012), menyatakan kemampuan ekstrak tegetes dalam mengobati luka akibat infeksi jamur *Saprolegnia sp* karena tanaman ini mengandung senyawa kimia saponin, mekanisme saponin dalam menyembuhkan luka dengan memacu pembentukan kolagen, yaitu struktur protein yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Surahman (1984), mengatakan zat-zat kimia tersebut sebagian besar termasuk dalam golongan mengandung flavonoid. Hasim (2003), menyatakan bahwa daya antimikroba disebabkan oleh adanya senyawa fenol dan turunannya yang dapat mendenaturasi protein sel jamur.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa tingkat serangan jamur *Saprolegnia Sp* paling rendah terdapat pada perlakuan P0 (0 ppm) yaitu 36,66% sedangkan tingkat serangan jamur tertinggi terdapat pada perlakuan P3 (600 ppm) yaitu sebesar 53,33%. Tingginya serangan jamur pada perlakuan P3, diduga karena intensitas jamur *Saprolegnia sp* pada media infeksi P3 tergolong tinggi sehingga menyebabkan infeksi pada telur ikan tawes dengan waktu yang cukup singkat yaitu 1 jam. Pada telur ikan tawes yang terserang jamur akan memperlihatkan tanda-tanda di sekeliling telur terdapat benang-benang halus seperti kapas. Sesuai penelitian Fregeneda-Grandes *et al.*, (2001); Hussein *et al.*, (2001) umumnya jamur *Saprolegnia sp* yang tumbuh dan menyerang organ ikan akan terlihat seperti kapas berwarna putih. Yousefian (2004) menyatakan bahwa jamur *Saprolegnia sp* yang diamati mengakar pada bagian putih telur. pada awalnya jamur akan menyerang telur ikan tidak berbahaya, tapi bila serangannya tidak dihentikan maka jamur akan menyebar pada telur yang lain dan telur tersebut akan mati dan perkembangan jamur *Saprolegnia Sp* terjadi karena adanya lapisan minyak yang terdapat pada telur dan akan menyebar pada telur yang hidup. *Saprolegnia* akan menjadi oomycete dan membentuk koloni untuk mempermudah dalam menginfeksi telur ikan sehingga telur yang rentan akan mati (Robertson *et al.* 2008; van den Berg *et al.* 2013).

Analisis fitokimia dilakukan terhadap daun bunga tahi ayam (*Tagetes erecta L*) untuk mengidentifikasi kandungan kimia sebagai langkah awal mengetahui komponen bioaktif. Senyawa yang terdapat pada *Tagetes erecta L* diuji secara kualitatif berdasarkan perubahan warna atau endapan yang terbentuk sebagai respon terhadap reagen yang diberikan. Analisis fitokimia menunjukkan hasil positif terhadap adanya senyawa tanin pada *Tagetes erecta L* segar. Senyawa tanin mudah larut dalam lipid dan memiliki potensi sebagai senyawa anti rayap dan anti jamur. Adanya senyawa tanin pada *Tagetes erecta L* sesuai dengan penelitian Kusmiati, *et.al.*, (2015) bahwa pada daun bunga tahi ayam terbukti mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan tanin.

Rendemen hasil ekstraksi *Tagetes erecta* L sebanyak 1,275%. Komponen bioaktif yang terdapat pada *Tagetes erecta* L sebagian besar larut dalam pelarut polar. Rendemen merupakan bagian bahan baku yang dapat dimanfaatkan. Banyaknya rendemen mempengaruhi sifat kelarutan komponen bioaktif. Kusumawati et al. (2008) menyatakan bahwa rendemen merupakan persentase bagian bahan baku yang dapat digunakan. Rendemen yang semakin besar menandakan bahwa bahan baku tersebut memiliki peluang yang lebih besar untuk dimanfaatkan dibandingkan bahan baku yang memiliki nilai rendemen yang rendah. Tumbuhan mengandung banyak senyawa fenol dan senyawa fenol tersebut memiliki sifat yang cenderung larut dalam pelarut polar (Harborne 1987).

IV. Kesimpulan

Adapun kesimpulan dalam penelitian ini adalah :

1. Pengaruh ekstrak *Tagetes erecta* L sangat efektif dalam pengendalian infeksi jamur *Saprolegnia* sp.
2. Ekstrak *Tagetes erecta* L paling efektif sebagai antijamur *Saprolegnia* sp terdapat pada perlakuan P1 (400 ppm) dengan nilai rata-rata adalah 14 %.

Daftar Pustaka

- Afrensi, 2007. Pengaruh Minyak Astiri Kemangi (*Ocimum basilicum* forma citratum Back) Terhadap Infestasi Larva Lalat Hijau (*Chrysomya megacephala*) Pada Ikan Mas (*Cyprinus arpio*). [Skripsi]. Diakses di <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jai/article/view/4077/2804>
- Ahmad, M. Benjakul, S. 2010. Extraction and characterization of pepsin soluble collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Chemistry Journal* 120:817-824.
- Anonim I, 2010. <http://Sumut.litbang.deptan.go.id/Tagetes-erecta-berguna-bagi-kita,diakses>. tanggal 4 April 2017
- BPTO, 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 jenis tanaman pengempur aneka penyakit*. Penerbit AgroMedia. Jakarta.
- Bruno, D.W., and Wood, B.P. 1994. *Saprolegnia and other oomycetes*. In fish diseases and disorder, volume 3, viral, bakteri and fungal infections. Edited by P.T.K. wood and D.W. Bruno. CABI Publising. Wallingford, oxon. United kingdom
- Carlson N.R. 2007. *Physiology of Behavior*. 9th Ed. Boston : Pearson Education, Inc. p. 290-319, 420-423
- Carter, W.V. 1978. Mamalia Darat Indonesia. Intermasa. Jakarta.
- Chivde.B.2011. *In-Vitro Antioxydant Activity Studies on the Flowers of Tagetes erecta* L (Compositae).
- Ciptanto, S., 2010. *Top 10 Ikan Air Tawar*. Lily Publisher. Yogyakarta

- Deptan. 2011. *Tagetes erecta* berguna bagi kita. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara, Medan.
- Djuhandi, T. 1981. *Dunia Ikan*. Armico, Bandung
- Effendie, M.I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Effendi, M.I. 2009. *Pengantar Akuakultur*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Espeland, S., P. E. Hansen. 2004. Prevention of Saprolegnia on rainbow trout eggs. BSc thesis, Faculty of Science and Technology, University of the Faroe Islands, Faroe Island. 50p.
- Fregeneda-Grandes, J.M., Fernández-Díez, M., Aller-Gancedo, J.M., 2001. Experimental pathogenicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), of two distinct morphotypes of long-spined Saprolegnia isolates obtained from wild brown trout, *Salmo trutta* L., and river water. *Journal. Fish Dis.* 24, 351–359.
- Gusrina. 2008. *Budidaya Ikan*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan. Jakarta.
- Hadiroseyani, Y., P. Hariyadi, S. Nuryati. 2006. Inventarisasi parasit ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) di daerah Bogor. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5(2): 167-177.
- Hagerman, A.E. 2002. Condensed Tannin Structural Chemistry. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford, OH 45056.
- Harbone JB. 1987. Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi 2. Diterjemahkan oleh Padmawinata K, Soediro I. Bandung: Penerbit ITB; 1996. 158-9, 162-8.
- Harborne. Dan Turner. 1984. Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi II. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung
- Hariana, Arief. 2005. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Jakarta : Penebar Swadaya
- Horvath, S.i., 2003. *Cryopreservatoin Of Common Carp Sperm. Departement Of Fish Culture*, Szent Istvan University, K.U 1, 2103 Godolo. Hungary.
- Hussein, M.M.A., Hatai, K., Nomura, T., 2001. Saprolegniosis in salmonids and their eggs in Japan. *Journal. Wildl. Dis.* 37, 204–207.
- Husni, M. Septiani, G. Agustina. 2016. Pemberian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. Vol. 21. No. 2, April 2016: 080–084.
- Karwani, G dan Siddhraj, S.S. 2015. *Tagetes erecta* plant: Review with significant pharmacological activities. Bhupal Nobles' College of Pharmacy, Udaipur, Rajasthan, 313 001, India. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. ISSN : 2321-3310;
- Kottelat, 1993. *Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Periplus edition, hongkong. P. 66.
- Krettiawan, H. 2008. *Infeksi saprolegnia (saprolegniasis)*. 10 hlm.